Клиническая онкогематология. 2016;9(3):314–25
ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

Clinical oncohematology. 2016;9(3):314–25
ONCO clinical HEMATOLOGY

МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

MYELOID MALIGNANCIES

Биология миелопролиферативных новообразований

А.Л. Меликян, И.Н. Суборцева

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

РЕФЕРАТ

Хронические миелопролиферативные заболевания (ВОЗ, 2001), или миелопролиферативные новообразования/опухоли (МПН) (ВОЗ, 2008), являются клональными заболеваниями, характеризуются пролиферацией одной или более клеточной линии миелопоэза в костном мозге с признаками сохраняющейся терминальной дифференцировки и, как правило, сопровождаются изменениями показателей крови. В группу классических Ph-негативных МПН отнесены: истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз и МПН неклассифицируемое. Приобретенные соматические мутации, лежащие в основе патогенеза Ph-негативных МПН, представлены мутациями генов *JAK2* (V617F, экзон 12), *MPL*, *CALR*. Мутации перечисленных генов наблюдаются примерно у 90 % больных. Однако данные молекулярные события не являются уникальными в патогенезе заболеваний. Мутации других генов (*TET2*, *ASXL1*, *CBL*, *IDH1*/*IDH2*, *IKZF1*, *DNMT3A*, *SOCS*, *EZH2*, *TP53*, *RUNX1* и *HMGA2*) принимают участие в формировании фенотипа заболевания. В настоящем обзоре описываются современные представления о молекулярной биологии МПН.

Ключевые слова: хронические миелопролиферативные заболевания, миелопролиферативные новообразования, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз, ген *JAK2,* ген *CALR,* ген *MPL.*

Получено: 11 апреля 2016 г.
Принято в печать: 11 апреля 2016 г.

Для переписки: Ирина Николаевна Суборцева, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167; тел.: +7(495)612-44-71; e-mail: soubortseva@yandex.ru

Для цитирования: Меликян А.Л., Суборцева И.Н. Биология миелопролиферативных новообразований. Клиническая онкогематология. 2016;9(3):314–25.

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-314-325

Biology of Myeloproliferative Malignancies

AL Melikyan, IN Subortseva

Hematology Research Center, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

ABSTRACT

Chronic myeloproliferative diseases (WHO, 2001), or myeloproliferative neoplasms/malignancies (MPN) (WHO, 2008), are clonal diseases characterized by proliferation of one or more myelopoietic cell line in the bone marrow with signs of unimpaired terminal differentiation and is normally associated with changes in peripheral blood characteristics. The group of classical Ph-negative MPNs consists of polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis and unclassified MPNs. Acquired somatic mutations contributing to the pathogenesis of Ph-negative MPNs include *JAK2* (V617F, exon 12), *MPL*, *CALR* gene mutations found in about 90 % of patients. However, these molecular events are not unique in the pathogenesis of the diseases. Mutations of other genes (*TET2*, *ASXL1*, *CBL*, *IDH1*/*IDH2*, *IKZF1*, *DNMT3A*, *SOCS*, *EZH2*, *TP53*, *RUNX1,* and *HMGA2*) are involved in formation of the disease phenotype. This review describes current concepts concerning the molecular biology of MPNs.

Keywords: chronic myeloproliferative diseases, myeloproliferative neoplasms, polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis, genes *JAK2*, *CALR*, and *MPL*.

Received: April 11, 2016
Accepted: April 11, 2016

For correspondence: Irina Nikolaevna Subortseva, PhD, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; Tel.: +7(495)612-44-71; e-mail: soubortseva@yandex.ru

For citation: Melikyan AL, Subortseva IN. Biology of Myeloproliferative Malignancies. Clinical oncohematology. 2016;9(3):314–25 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-314-325

© 2016 практическая медицина

ВВЕДЕНИЕ

В 1951 г. Уильям Дамешек объединил хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ), первичный миелофиброз (ПМФ) в общую группу миелопролиферативных новообразований (МПН). В эту группу злокачественных миелопролиферативных опухолей включены также хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, мастоцитоз и неклассифицируемые МПН. Классические Ph-негативные МПН объединяют три заболевания: ИП, ЭТ, ПМФ.

ИП характеризуется пролиферацией эритроидного, гранулоцитарного, мегакариоцитарного ростков миелопоэза, с преимущественной пролиферацией эритроидного ростка кроветворения (панмиелоз), увеличением числа эритроцитов и повышением уровня гемоглобина, тромбоцитозом, лейкоцитозом в периферической крови (панцитоз), независисмостью эритропоэза от нормальных механизмов регуляции. Заболевание обычно протекает со спленомегалией, высоким риском кровотечений и тромбоэмболических осложнений. ЭТ проявляется стойким тромбоцитозом ($> 450 \times 10^9$/л тромбоцитов) с пролиферацией преимущественно мегакариоцитарного ростка, спленомегалия диагностируется редко, имеется высокий риск тромботических или геморрагических осложнений. Возраст старше 60 лет и тромбозы в анамнезе, как известно, являются основными факторами риска при ИП и ЭТ. Однако соматические мутации также включены в прогностическую шкалу как факторы риска [1].

ПМФ характеризуется развитием ретикулинового или коллагенового (на поздних стадиях) фиброза костного мозга, пролиферацией мегакариоцитарного и гранулоцитарного ростков гемопоэза с признаками дисплазии мегакариоцитов [2, 3]. Миелофиброз (МФ), как первичный, так и постполицитемический или посттромбоцитемический, имеет довольно агрессивное течение (в отношении общей выживаемости и качества жизни) среди классических Ph-негативных МПН. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с высоким и промежуточным-1 риском в настоящее время считается единственным методом лечения, позволяющим увеличить продолжительность жизни, но, к сожалению, связана с высоким риском смерти [4]. Международные системы оценки прогноза (International Prognostic Scoring System, IPSS; Dynamic International Prognostic Scoring System, DIPSS и DIPSSplus) были разработаны для пациентов с ПМФ. Прогностические шкалы IPSS и DIPSS включают пять переменных для прогнозирования выживаемости: возраст старше 65 лет, уровень гемоглобина менее 100 г/л, количество лейкоцитов более 25×10^9/л, 1 % бластных клеток и более в крови, наличие общих симптомов опухолевой интоксикации (профузная ночная потливость, потеря более 10 % массы тела в течение последних 6 мес., неинфекционная лихорадка, боль в костях). В шкале DIPSS такому фактору, как анемия, присвоено два балла. Отсутствие или наличие 1, 2, 3 и более неблагоприятных факторов определяют низкий, промежуточный-1, промежуточный-2 и высокий риск заболевания и позволяют прогнозировать выживаемость пациентов: медиана 117–181, 79–114, 43–59 и 23–31 мес. соответственно. Прогностическая шкала DIPSSplus включает в себя три дополнительных фактора риска: наличие неблагоприятного кариотипа, трансфузионной зависимости и тромбоцитопении [4–8]. В последнее время соматические мутации гена *CALR* (благоприятный прогноз) и гена *ASXL1* (неблагоприятный прогноз) включены в шкалу оценки прогноза как независимые факторы [9].

Больные МПН имеют высокий риск тромботических и геморрагических осложнений, прогрессирования заболевания с трансформацией во вторичный острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), бластный криз [10, 11]. Ввиду важности молекулярных маркеров как для диагностики, так и оценки риска осложнений и риска прогрессирования заболевания настоящий обзор литературы посвящен текущему пониманию молекулярной биологии МПН.

JAK2 — НЕРЕЦЕПТОРНАЯ ТИРОЗИНКИНАЗА

Человеческий геном содержит около 518 протеинкиназ, которые играют важную роль в регуляции большинства клеточных путей, в частности тех, которые принимают участие в трансдукции (передаче) сигнала. Тирозинкиназы являются подгруппой широкого класса протеинкиназ. Далее киназы могут передавать фосфатную группу пуринового нуклеотида трифосфата гидроксильным группам специфических остатков тирозина — фосфорилирование тирозина, затем происходит изменение структуры нижестоящих сигнальных белков и возникают сайты связывания белков с Src-гомологами-2 (SH2). Тем самым тирозинкиназы принимают участие в регулировании активности ферментов. Все тирозинкиназы можно разделить на два класса: рецепторные и нерецепторные [12].

Янус-киназы (JAK) представляют собой семейство нерецепторных тирозинкиназ. Тирозинкиназы JAK оказывают влияние на дальнейшее фосфорилирование факторов транскрипции, которые называются STAT (signal transducer and activator of transcription; преобразователь сигнала и активатор транскрипции) в сигнальном пути JAK-STAT (рис. 1). Путь JAK-STAT является одним из основных механизмов, с помощью которого факторы роста и рецепторы цитокинов передают сигналы внутри клетки. Этот механизм регулирует пролиферацию, дифференцировку, миграцию, апоптоз и выживание клеток [13]. Активация этого пути представляет собой ведущее звено патогенеза МПН.

Членами семейства JAK являются JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. В этом семействе JAK1, JAK2 и TYK2 встречаются во всех клетках млекопитающих, в то время как JAK3 — только в кроветворных клетках [14]. Они необходимы для роста, выживания, пролиферации и дифференцировки различных клеток и имеют важное значение для гемопоэтических клеток. Гены *TYK2, JAK1, JAK2* и *JAK3* расположены на хромосомах 19p13.2, 1p31.3, 9p24 и 19p13.1 соответственно [15]. Семейство JAK включает семь описанных областей гомологии, которые называются доменами гомологии JAK1–7 (Janus homology, JH). Домен JH1 является каталитически активным, в то время как домен JH2 считается каталитически неактивным. Домен JH2 играет отрицательную роль в ауторегуляции деятельности JAK2, что имеет важное значение в нормальных регуляторных функциях. Мутации в домене JH2 могут оказывать как отрицательное, так и положительное влияние на активность киназы [16, 17].

Ген *JAK2* включает 25 экзонов, а его белок содержит 1132 аминокислоты. Тирозинкиназа JAK2 связана с

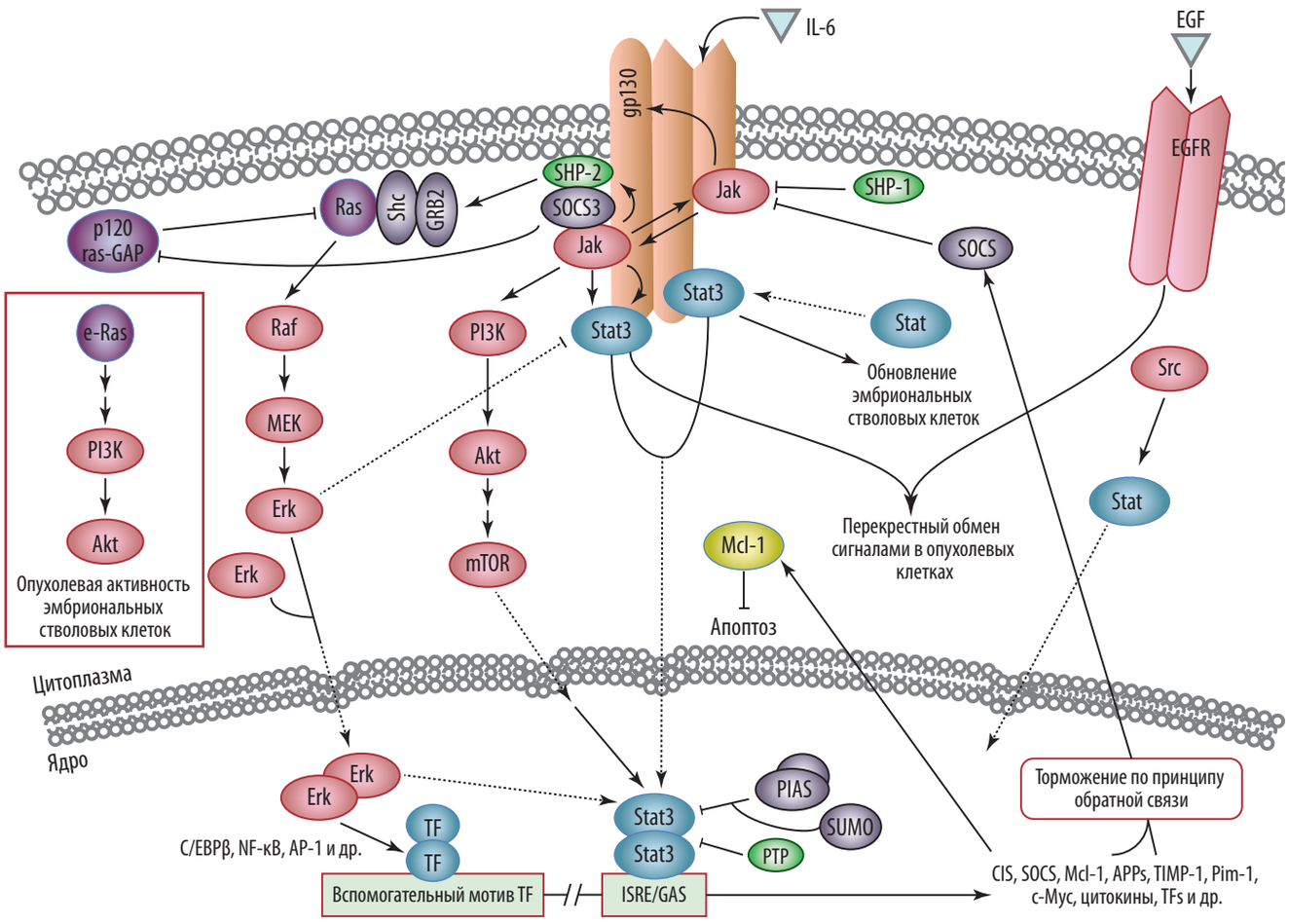

Рис. 1. Сигнальный путь JAK-STAT (цит. по [13])

Fig. 1. Signaling pathway of JAK-STAT (cited according to [13])

рецепторами цитокинов. Сначала цитокиновые лиганды (эритропоэтин, тромбопоэтин и интерлейкины) прикрепляются к рецептору цитокина, затем белок взаимодействует с цитоплазматическим доменом рецептора и катализирует фосфорилирование тирозина (происходит аутофосфорилирование тирозинкиназы JAK2), что вызывает передачу сигнала через пути STAT5, STAT3, RAS-MAPK и PI3K-AKT. Данные сигнальные пути регулируют экспрессию генов, пролиферацию и дифференцировку миелоидных клеток-предшественниц [18].

Мутации, затрагивающие JH2-негативную регуляторную область, приводят к потере аутоингибирующих свойств и, как следствие, к увеличению активности JAK2 и цитокин-независимому росту клеточных линий костного мозга [19].

*JAK2*V617F

Приобретенная мутация гена *JAK2* — *JAK2*V617F — происходит в пределах псевдокиназного домена JH2 и вызывает аутоингибирование домена JH1. Мутации приводят к постоянному аутофосфорилировнию и аутоактивации тирозинкиназы (без связи рецептора и лиганда) и постоянной передаче активирующих сигналов на сигнальный путь STAT. Эта точечная мутация у больных МПН, впервые описанная в 2005 г., является результатом замены гуанина на тимидин в нуклеотиде 1849, в экзоне 14 ДНК и вызывает замену валина на фенилаланин в кодоне 617 полипептидной цепи (рис. 2) [20–23]. Мутация

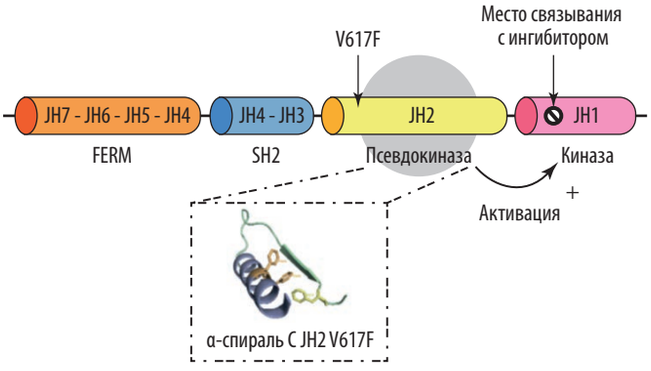

Рис. 2. Доменная структура Янус-киназы 2, место активирующей мутации V617F (цит. по [23]): киназный домен (JH1), псевдокиназный домен (JH2), Src-гомолог-2 (SH2) и FERM-домен гомологии. Мутация V617F находится в JH2 и приводит к активации JH1. Конформационное изменение, индуцированное мутацией V617F, происходит на уровне α-спирали C JH2 и приводит к активации JH1

Fig. 2. JAK-2 domain structure, V617F activating mutation site (cited according to [23]): kinase domain (JH1), pseudokinase domain (JH2), Src-homologue-2 (SH2) and FERM-domain of homology. The V617F mutation is in JH2 and leads to JH1 activation. Conformational alteration induced by the V617F mutation takes place at the level of C JH2 α- helix and leads to JH1 activation

*JAK2*V617F выявляется в гемопоэтических стволовых клетках, а в результате клонального гемопоэза развивается МПН [24].

Мутация *JAK2*V617F была обнаружена у большинства больных ИП (95–98 %), у 50–70 % больных ЭТ и 40–50 % больных ПМФ [18]. Эта мутация также наблюдается у пациентов с миелодиспластическими синдромами/миелопролиферативными новообразованиями (МДС/МПН), в частности в 2–13 % случаев при хроническом миеломоноцитарном лейкозе (ХММЛ) [25–27] и в 50–70 % случаев рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами и тромбоцитозом (РАКС-Т) [28]. Данная мутация была обнаружена менее чем у 10 % больных ОМЛ [29].

Больные МПН — носители гомозиготной мутации *JAK2*V617F имеют более выраженные симптомы заболевания, такие как массивная спленомегалия, высокий риск тромботических осложнений [30].

Больные ПМФ с мутацией *JAK2*V617F имеют большие размеры селезенки, высокий лейкоцитоз, тромбоцитоз, низкий уровень гемоглобина, что является неблагоприятными факторами развития бластного криза и невысоких показателей общей выживаемости. Однако это не единственный механизм прогрессирования заболевания с трансформацией во вторичный острый лейкоз [31]. В европейской когорте больных ПМФ мутация *JAK2*V617F коррелировала с пожилым возрастом, высоким уровнем гемоглобина и лейкоцитозом [32]. Выявление мутации *JAK2*V617F считается фактором риска развития тромбоза у пациентов с ПМФ [33].

У больных ЭТ мутация *JAK2*V617F связана с высоким уровнем гемоглобина и лейкоцитозом, умеренным тромбоцитозом, высоким риском венозных тромбозов. Больные ЭТ с мутацией *JAK2*V617F преимущественно пожилого и старческого возраста на момент постановки диагноза [34].

Оценка риска тромботических осложнений у больных ЭТ включает такие факторы, как возраст старше 60 лет, отсутствие или наличие тромбозов в анамнезе, сердечно-сосудистые факторы риска (например, сахарный диабет, артериальная гипертензия, курение) [1]. Другие факторы риска, такие как лейкоцитоз, наличие мутации *JAK2*V617F и аллельная нагрузка, тоже признаны факторами риска развития тромбозов [35, 36]. В 2012 г. разработана прогностическая шкала для оценки риска тромботических осложнений у больных ЭТ (IPSET — International Prognostic Score for ET), в которой возраст старше 60 лет, тромботические события в анамнезе являются факторами риска тромботических осложнений. Каждый фактор имеет значение 1 балл, а такой категории, как мутация *JAK2*V617F, присвоено 2 балла [37]. Все пациенты стратифицированы в группы риска: низкий — < 2 баллов, промежуточный — 2 балла, высокий — > 2 баллов. В этой прогностической модели риск развития тромбозов составляет 1,03, 2,35 и 3,56 % в год для больных ЭТ низкого, среднего и высокого риска соответственно. По данным ряда авторов, уровень лейкоцитов 11×10^9/л и более является дополнительным фактором риска тромботических осложнений [35].

У больных ИП повышение аллельной нагрузки *JAK2*V617F связано с увеличением уровня гемоглобина и нейтрофилов. Не выявлено корреляции аллельной нагрузки с риском развития тромбозов, однако существует связь между высокой аллельной нагрузкой и высокой скоростью трансформации с развитием постполицитемического МФ и выраженностью симптомов опухолевой интоксикации (аквагенный зуд) [38].

Ряд авторов высказывает гипотезу о взаимосвязи мутации *JAK2*V617F с другими молекулярными событиями. При одном молекулярном событии МПН имеют три различных фенотипических проявления (ИП, ЭТ, ПМФ), наблюдается трансформация JAK2-позитивного МПН во вторичный *JAK2*-негативный ОМЛ; возможно присутствие как *JAK2*V617F-негативных, так и *JAK2*V617F-позитивных колоний у одного больного [39].

JAK2 EXON12

Примерно у 5 % больных ИП мутация *JAK2*V617F не обнаруживается. В данной группе больных присутствуют иные мутации, например *JAK2* exon12 (F537-K539delinsL, H538QK539L, K539L, N542-E543del, R541-E543delinsK, H538-K539delinsL) [40]. Клиническими проявлениями заболевания в данных наблюдениях также служат эритроцитоз и спленомегалия [41]. Имеют место и другие мутации, например V536-I546dup11, F537-I546dup10 + F547L, и встречаются они как в семейных, так и спорадических случаях при ИП [42]. Эти мутации присутствуют в регионе, связанном с доменами JH2 и JH3, а не в псевдокиназном домене. Они модифицируют структуру домена JH2, что приводит к модификации ответа на воздействие фактора роста *in vitro* и формированию фенотипа МПН в костном мозге на мышиной модели. Эти мутации вызывают цитокиннезависимую пролиферацию экспрессии рецепторов эритропоэтина, повышение уровня фосфорилирования тирозина, активации тирозинкиназы JAK2 и сигнального пути STAT5 [18].

Больные ИП с мутацией *JAK2* exon12 в сравнении с больными ИП с *JAK2*V617F на момент постановки диагноза значительно моложе, заболевание протекает с высоким уровнем гемоглобина, нормальным числом лейкоцитов и тромбоцитов, в большинстве случаев эритропоэтин сыворотки субнормальный [42]. В целом изолированный эритроцитоз бывает основным проявлением заболевания при наличии мутации *JAK2* exon12 [43]. Тем не менее отдаленные результаты наблюдения за больными не выявили различий в частоте развития постполицитемического МФ и вторичного острого лейкоза у больных ИП в зависимости от мутационного статуса [42, 44].

MPL

Активация сигнального пути JAK-STAT является важным патогенетическим событием при классических Ph-негативных МПН. При ПМФ и ЭТ половина больных имеет приобретенную мутацию *JAK2*V617F. Кроме того, другие составляющие пути трансдукции сигнала JAK-STAT являются важным регулятором гемопоэза. Ген рецептора тромбопоэтина (*MPL*) относится к суперсемейству рецепторов цитокинов, расположен на хромосоме 1p34 и включает 12 экзонов. Тромбопоэтин после связывания с внеклеточным доменом рецептора вызывает фосфорилирование и активацию тирозинкиназы JAK2, фосфорилирование и активацию MPL, передачу сигнала через STAT-путь. Исследования показали, что уровень экспрессии рецептора MPL имеет важное значение для возникновения и прогрессирования МПН [45, 46].

В 1999 г. впервые отмечено, что мутации гена *MPL*, возможно, имеют связь с аномальной пролиферацией мегакариоцитов у больных ЭТ и ПМФ. В 2002 г. вы-

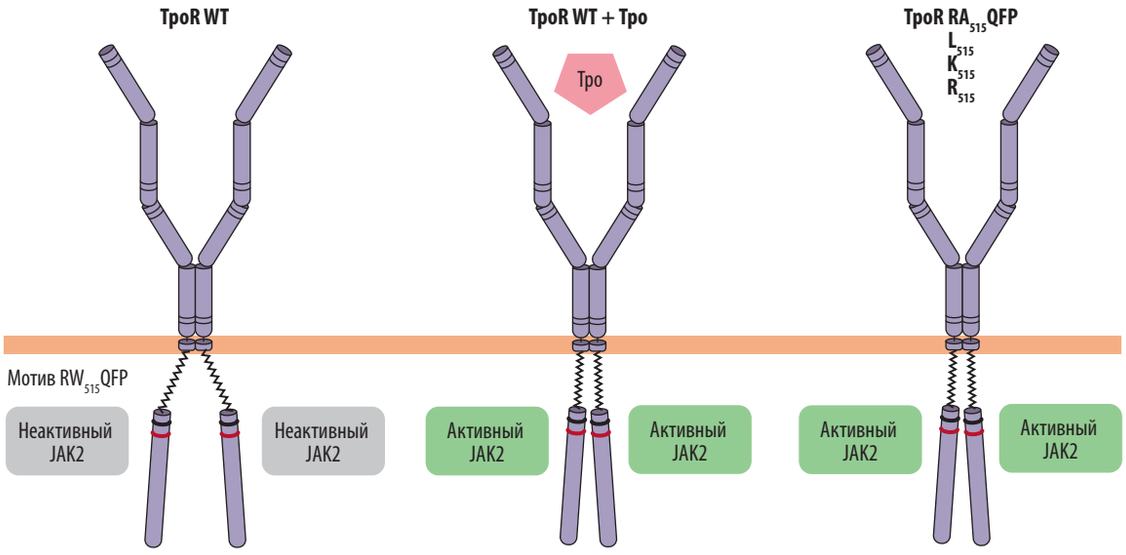

Рис. 3. Тромбопоэтиновый рецептор (TpoR, MPL) в норме, активированном состоянии после связи с тромбопоэтином (Tpo), состоянии аутоактивации в результате мутации (цит. по [51])
WT — дикий тип.

Fig. 3. Thrombopoietin receptor (TpoR, MPL) in the normal state, activated state after binding to thrombopoietin (Tpo), autoactivation state as a result of mutation (cited according to [51])
WT — wild type.

явлена точечная мутация (W515S) во внутриклеточном домене гена *MPL*, которая индуцирует фактор — независимую пролиферацию Ba/F3-клеток мышей [47]. Впервые активирующая точечная мутация (Ser505Asn) в трансмембранном домене гена *MPL* описана в Японии у 8 членов одной семьи, больных ЭТ [48]. Популяционное исследование выявило наличие полиморфизма K39N у 7 % афроамериканцев с МПН, что приводило к изменению экспрессии белка MPL и повышению числа тромбоцитов [49]. В 2006 г. описана соматическая мутация в трансмембранной области MPL (W515L) у 4 (9 %) из 45 больных *JAK2*V617F-негативным ПМФ [50, 51].

Мутация *MPL*W515L — следствие замены гуанина на тимидин (нуклеотид 1544 в экзоне 10) в последовательности ДНК, в результате чего происходит замена триптофана на лейцин (кодон 515 полипептидной цепи). Формы W515 являются частью трансмембранного домена, который играет важную роль в поддержании рецептора в его неактивном состоянии при отсутствии лиганда (рис. 3) [51]. Таким образом, мутация *MPL*W515L вызывает спонтанную активацию рецептора MPL и сигнального пути JAK-STAT, а также цитокиннезависимую пролиферацию кроветворных клеток. Мутация *MPL*W515L стимулирует пролиферацию клеток из-за повышения чувствительности рецептора к тромбопоэтину. На мышиных моделях показано, что мутация *MPL*W515L приводит к развитию МПН, протекающему с тромбоцитозом, спленомегалией, инфарктами селезенки и фиброзом костного мозга.

В исследовании у 1182 пациентов с ОМЛ и МПН выявлена мутация *MPL*W515K, вызывающая замену триптофана на лизин. Другими активирующими мутациями гена *MPL*, обнаруженными в экзоне 10, являются W515A или W515R, которые приводят к замене триптофана на аланин и триптофана на аргинин соответственно [52]. Кроме того, у больных ЭТ описана мутация во внеклеточном домене MPL (Y252H), которая может способствовать развитию ЭТ [53].

Мутации гена *MPL* не встречаются у больных ИП, но могут быть выявлены у пациентов со вторичным ОМЛ [54]. Могут встречаться как изолированно, так и вместе с *JAK2*V617F с более высокой аллельной нагрузкой мутации *MPL*. Частота выявления мутаций *MPL*W515L и *MPL*W515K у больных ПМФ и ЭТ составляет 1–15 % [55, 56].

При наличии мутации *MPL* заболевание характеризуется высоким тромбоцитозом, нормальным уровнем эритропоэтина, низким содержанием гемоглобина, низкой клеточностью костного мозга. Мутация *MPL* по сравнению с *JAK2*V617F является более значимым фактором риска тромботических осложнений и развития трансфузионно-зависимой анемии [55, 57, 58]. Не доказана связь между спленомегалией, аномальным кариотипом, риском трансформации заболевания в посттромбоцитемический МФ или ОМЛ и наличием мутаций гена *MPL*. Тем не менее описаны клинические наблюдения, когда высокий риск тромбоза, массивной спленомегалии, фиброза костного мозга отмечался при семейном тромбоцитозе, вызванном мутацией Ser505Asn гена *MPL* [58]. Хотя и пациенты с *MPL*W515K имеют высокую аллельную нагрузку по сравнению с *MPL*W515L, не было никаких существенных различий в клинических и лабораторных характеристиках в данных группах [55].

CALR

У 30–45 % больных МПН с отсутствием мутаций генов *JAK2* и *MPL* выявлены соматические мутации в гене *CALR*. Ген *CALR* локализован на хромосоме 19p13.2, экзоне 9. Белок кальретикулин, кодируемый геном *CALR*, выполняет множество функций, связанных с шаперонной[1]

[1] Шапероны (англ. chaperones) — класс белков, главная функция которых состоит в восстановлении правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков, а также образовании и диссоциации белковых комплексов.

активностью и гомеостазом кальция. Белок состоит из трех основных областей: первая представляет собой N-концевой лектинсвязывающий домен, который играет основную роль в шаперонной активности и связывании цинка; вторая — богатый пролином домен P, который содержит высокоаффинный сайт связывания кальция; третья — C-домен, который содержит несколько сайтов связывания кальция. Белок кальретикулин играет важную роль в клеточной пролиферации и дифференцировке, апоптозе, иммуногенной гибели клеток, влияет на многие клеточные функции, например синтез липидов и белков, пространственную конфигурацию белков, хранение кальция, активность клеточной мембраны, цитоплазмы, ядра и внеклеточного матрикса [34, 59].

В 2013 г. T. Klampfl и соавт. [60] при проведении полноэкзомного секвенирования ДНК у больных ПМФ с отсутствием мутаций *MPL*, *JAK2* выявили мутацию гена *CALR*. На следующем этапе работы проведен анализ мутаций во всей когорте больных МПН, что позволило обнаружить в общей сложности 36 типов соматических мутаций (инсерции и делеции) в экзоне 9 гена *CALR*. Мутации были обнаружены у 67 % пациентов с ЭТ и 88 % — с ПМФ при отсутствии мутаций *MPL*, *JAK2*. Мутации *CALR* выявлены у 3 из 24 пациентов с РАКС-Т и не обнаружены при ОМЛ, ХМЛ, ХММЛ, а также контрольной группе. В том же году J. Nangalia и соавт. [61] провели полноэкзомное секвенирование на большом количестве образцов ДНК. Авторы обнаружили соматические мутации *CALR* у 70–84 % больных МПН с отсутствием мутаций *JAK2*. Кроме того, мутации гена *CALR* выявлены при МДС, ХММЛ, атипичном ХМЛ, но не при РАКС-Т, ОМЛ, системном мастоцитозе, эозинофильных расстройствах, реактивных состояниях, идиопатических эритроцитозах, лимфомах, солидных опухолях и в контрольной группе. Наиболее распространенные варианты мутаций гена *CALR* представлены мутациями p.L367fs*46 (тип 1) и p.K385fs*47 (тип 2) (рис. 4). Тип 1 (52-bp делеция) и тип 2 (5-bp инсерция) были обнаружены в 45–53 и 32–41 % случаев соответственно [60, 61]. Японская группа исследователей сообщила о выявлении мутаций гена *CALR* в 22 (19,6 %) из 112 случаев при ЭТ и в 7 (30,4 %) из 23 случаев при ПМФ. Они определили четыре новых мутации *CALR*: c.1100_1133del, c.1126_1144del, c.1153_1154insTCTGT, c.1148_1154>GAC, которые приводили к изменению C-концевой последовательности белка. Данные редкие мутации диагностированы с частотой менее 10 % [62]. *JAK2*V617F и мутации гена *CALR* считаются взаимоисключающими. Тем не менее встречаются отдельные сообщения о случаях с одновременным выявлением этих мутаций [63]. В целом мутации *CALR* наблюдаются в гемопоэтических стволовых клетках и клетках-предшественницах, приводят к сдвигу рамки считывания [61]. Эти изменения вызывают потерю большей части C-концевого домена и сигнала KDEL.

Белок кальретикулин имеет новую аминокислотную последовательность в C-концевой части, и происходит замена C-концевых отрицательно заряженных аминокислот на положительно заряженные, такие как аргинин и метионин [60]. Ca^{2+}-связывающая функция мутантного белка нарушается, и изменяется внутриклеточная локализация белка. Измененная пептидная последовательность C-концевого домена мутировавшего белка представляет собой мишень для иммунного ответа, поскольку является опухолеспецифическим эпитопом (антигенной детерминантой). На мышиных моделях показано, что только в клетках с мутацией *CALR* происходит фосфорилирование STAT5, активация сигнального пути JAK-STAT при низкой концентрации или отсутствии интерлейкина-3 [64].

Пациенты с мутациями *CALR* имеют фенотип заболевания, отличающийся от фенотипа при мутациях *JAK2*, *MPL* или тройных негативных случаях. ЭТ протекает с более низким уровнем гемоглобина и количеством лейкоцитов, более высоким тромбоцитозом и низким риском развития тромбоза, высоким риском посттромбоцитемического МФ. Пациенты обычно молодого возраста, преимущественно мужчины [60, 61]. Семейные случаи ЭТ с мутацией *CALR* характеризуются высоким тромбоцитозом, низкой частотой прогрессирования заболеваний по сравнению со случаями с мутацией *JAK2* [65].

Кроме того, в когорте из 144 пациентов с тромбозом абдоминальных вен (воротная, селезеночная, верхняя брыжеечная) частота мутации *JAK2*V617F составила 18,8 %, тогда как мутации *CALR* не были выявлены ни в одном наблюдении [66]. В аналогичном исследовании с включением 209 пациентов с тромбозом абдоминальных вен мутации *JAK2* и *CALR* были в 82,4 и 5,4 % случаев соответственно [67].

Получены противоречивые данные о влиянии мутации *CALR* на выживаемость больных ЭТ. T. Klampfl и соавт. сообщают о лучшей общей выживаемости в группе больных с мутацией *CALR* в сравнении с пациентами с мутацией *JAK2* [60]. В исследовании, проведенном J. Nangalia, статистически значимых различий не выявлено [61]. Кроме того, при изучении влияния мутаций *CALR* на общую выживаемость у 299 больных ЭТ самые лучшие показатели были в группе с тройным негативным заболеванием и при выявлении мутации *MPL*. Медиана выживаемости составила 19 лет для *JAK2* и 20 лет для *CALR*-позитивных случаев [68].

У больных ПМФ мутации *CALR* были связаны с высоким тромбоцитозом, нормальным количеством лейкоцитов, низкой частотой анемии и трансфузионной зависимости от переливания эритроцитарной взвеси. Заболевание преимущественно диагностировалось в молодом возрасте, а пациенты относились к группе низкого риска в соответствии со шкалой DIPSSplus [69].

Общая выживаемость больных ПМФ с мутациями *CALR* была лучше в сравнении с мутациями *JAK2* или *MPL* [60]. Выживаемость больных ПМФ с мутацией *CALR* не зависит от группы риска по шкале DIPSSplus и статуса мутации *ASXL1*. При этом *CALR*-негативные, *ASXL1*-позитивные и тройные негативные случаи ПМФ рас-

Рис. 4. C-конец экзона 9 гена *CALR* (цит. по [62])
3'UTR — 3'-концевая нетранслируемая область; WT — дикий тип.

Fig. 4. C-end of exon 9 of *CALR* gene (cited according to [62])
3'UTR — 3' untranslated region; WT — wild type.

сматриваются как ПМФ с высокой степенью риска [69]. Кроме того, было показано, что у пациентов с мутацией *CALR* 1-го типа более длительная общая выживаемость по сравнению с больными с мутацией *CALR* 2-го типа и *JAK2* [70].

TET2

TET2 представляет собой ген, который кодирует метилцитозиндиоксигеназу. Данный фермент катализирует превращение 5-метилцитозина до 5-гидроксиметилцитозина, который играет ключевую роль в активном деметилировании ДНК. Ген *TET2* локализован на хромосоме 4q24. Изучение функции гена *TET2 in vivo* на мышах позволило установить, что инсерция приводит к снижению уровня мРНК и выживаемости [71]. Белок, кодируемый данным геном, играет ключевую роль в миелопоэзе и определяется у пациентов с различными миелоидными злокачественными новообразованиями [72]. Мутации гена *TET2* впервые описаны в 2008 г. и представлены инсерциями, делециями, нонсенс и миссенс-мутациями, которые приводят к потере функции гена *TET2*. Мутации этого гена встречаются в 19 % наблюдений при МДС, 12 % — МПН, 24 % — вторичном ОМЛ и 22 % — ХММЛ, а также при других миелоидных новообразованиях, таких как системный мастоцитоз, МДС/МПН, ОМЛ [73]. При ИП мутация гена встречается в 16 % наблюдений, ЭТ — в 5 %, ПМФ — в 17 %, при постполицитемическом и посттромбоцитемическом МФ — в 14 %, в фазе бластного криза классических Ph-негативных МПН — в 17 %. В *JAK2*V617F-позитивных случаях данная мутация отмечается у 12,1–17 % пациентов по сравнению с 7 % при *JAK2*V617F-негативных случаях [74]. В *JAK2* (V617F и экзона 12) и *MPL* (экзон 10)-негативных наблюдениях мутация *TET2* выявлена у 4,8 % пациентов [75]. В литературе имеются сообщения о редких мутациях, например p.P177fs, p.C1298del и p.P411del, при неклассифицируемом МПН и ЭТ [76]. Анализ семейных случаев показал, что мутации *TET2* не являются наследственными. Тем не менее имеются сообщения о мутациях *TET2* в зародышевых клетках [77].

Мутация *TET2* представляет собой позднее молекулярное событие, т. е. *JAK2*V617F предшествует ее появлению [78]. Мутация *TET2* может присутствовать в независимых клонах у пациентов при прогрессировании заболевания с развитием вторичного ОМЛ [79].

При изучении корреляции клинических проявлений и мутационного статуса не выявлено влияния мутации *TET2* на выживаемость, риск вторичного ОМЛ, тромботических осложнений у больных ИП и ПМФ. Однако при этом заболевание протекало с более низким уровнем гемоглобина и диагностировано у пациентов старшей возрастной группы [74]. Ряд исследований посвящен изучению клинических характеристик заболевания в зависимости от последовательности появления мутаций (*JAK2* или *TET2*) [80]. При анализе всей группы классических Ph-негативных МПН с возникновением мутаций *JAK2* как первого молекулярного события заболевание диагностируется в молодом возрасте. Пациенты имеют низкий риск тромботических осложнений, отмечается высокая доля больных ИП. Кроме того, *in vitro* показано, что клетки с первой мутацией *JAK2* были более чувствительны к таргетной терапии (руксолитинибу).

ASXL1

Ген *ASXL1* находится на хромосоме 20q11.1. Мутации данного гена являются одними из наиболее часто встречающихся у больных с миелоидными новообразованиями. Белок, кодируемый данным геном, относится к группе белков, участвующих в регуляции транскрипции, опосредованной рецепторами гормонов, такими как рецепторы ретиноевой кислоты, γ-рецептор активатора пролиферации пероксисом. Мутации *ASXL1* приводят к повышению экспрессии HoxA9 и HoxA10 и вместе с мутациями *NRAS/KRAS* обусловливают возникновение миелоидных неоплазий. Важно отметить, что снижение экспрессии *ASXL1* приводит к потере комплаентности (приверженности) *EZH2* к целевому локусу [81].

Мутации *ASXL1* были описаны у 11 % пациентов с МДС, у 43 % — ХММЛ, у 7 % — первичным ОМЛ и у 47 % — вторичным ОМЛ. Мутации *ASXL1* могут быть выявлены одновременно с мутацией *TET2* [82, 83].

O. Abdel-Wahab и соавт. провели исследование по оценке влияния генетических событий на развитие вторичного ОМЛ [84]. В исследование включено 63 пациента со вторичным ОМЛ, развившимся в результате прогрессирования МПН. Мутации *TET2* и *ASXL1* были выявлены в 26,3 и 19,3 % наблюдений соответственно. Авторы пришли к выводу, что мутации *TET2/ASXL1* могут быть первым молекулярным событием и предшествовать клону с мутацией гена *JAK2*. В исследовании мутационного статуса у 149 пациентов с МПН мутации *ASXL1* встречались с высокой частотой у больных ПМФ (20 %) по сравнению с ИП (7 %) и ЭТ (4 %) [85]. Данное молекулярное событие приводит к изменению уровня транскрипции и связано с неблагоприятным прогнозом у больных МПН. У 16 % (8/50 случаев) больных ЭТ возможно сочетание мутаций *ASXL1* и *CALR*. В этой группе больных медиана уровня гемоглобина ниже в сравнении с CALR-позитивными наблюдениями. В 2 наблюдениях отмечено быстрое прогрессирование заболевания и развитие постполицитемического МФ [86].

В многоцентровом исследовании прогностической значимости молекулярных маркеров у 897 больных ПМФ независимыми неблагоприятными факторами были *ASXL1, SRSF2* и *EZH2*. Однако только мутация *ASXL1* оставалась статистически значимым неблагоприятным фактором в многофакторном анализе [87]. A. Tefferi и соавт. показали, что общая выживаемость была самой продолжительной у больных ПМФ с мутационным статусом CALR+ASXL1– и кратчайшей у больных с CALR–ASXL1+, тогда как пациенты с CALR+ASXL1+ и CALR–ASXL1– были отнесены в категорию промежуточного риска. Молекулярная прогностическая модель, основанная на CALR/ASXL1, не зависит от шкалы IPSS. Мутационный статус CALR–ASXL1+ был определен как наиболее высокая категория риска у больных ПМФ [9].

EZH2

Изменения структуры хромосомы 7 или 7q часто встречаются и коррелируют с плохим прогнозом у больных МПН. Одним из генов, расположенных на 7q36.1, является *EZH2* [88].

Этот ген кодирует фермент, который является членом группы поликомб (Polycomb-group proteins) — семейства

белков, которые способны ремоделировать хроматин. Эти белки-регуляторы были впервые описаны у дрозофил. Они подавляют гены, контролирующие индивидуальные отличия сегментов развивающегося эмбриона. Они так видоизменяют структуру хроматина, что транскрипционные факторы не могут связываться с промоторными последовательностями ДНК. Белки группы поликомб представляют собой семейство эпигенетических регуляторов, которые, модифицируя гистоны, подавляют активность множества генов, отвечающих за клеточную дифференцировку. У млекопитающих идентифицировано два основных фермента семейства поликомб: PRC1 и PRC2. Каталитическое ядро PRC2 состоит из белков EZH1, EZH2 и т. д. EZH катализирует триметилирование лизина 27 гистона H3 (H3K27me3), что приводит к сохранению состояния транскрипционной репрессии гена-мишени.

Гиперэкспрессия *EZH2* наблюдается при солидных опухолях, таких как рак молочной железы и рак простаты [89]. В случае миелоидных заболеваний определяются мутации с потерей функции белка: при МДС/МПН — 12 %, ПМФ — 13 %, ИП — 3 % [88]. В когорте 879 больных ПМФ мутации *EZH2* были связаны с не менее 1 % циркулирующих бластных клеток и невысокой выживаемостью. Однако при введении данных критериев в прогностическую шкалу IPSS статистической значимости не выявлено [32].

IDH1/IDH2

Изоцитратдегидрогеназы (IDH) катализируют окислительное декарбоксилирование изоцитрата в 2-оксоглутарат. IDH имеет три изоформы: IDH3 принимает участие в цикле Кребса в митохондриях, IDH1 и IDH2 функционируют вне цикла Кребса в пероксисомах. Мутации *IDH1* и *IDH2* были выявлены у больных ОМЛ. В результате мутации генов *IDH1/2* изменяется активность фермента и, как следствие, гиперметилирование ДНК. В хронической фазе МПН встречаются с низкой частотой (< 5 %), в фазе бластного криза частота возрастает до 21 %. Риск прогрессирования заболевания с трансформацией во вторичный ОМЛ в группе 879 пациентов с ПМФ был значительно выше в случае выявления мутации *IDH1* или *IDH2* [32].

DNMT3A

DNMT3A является членом семейства метилтрансфераз ДНК, которое включает DNMT1, DNMT3A и DNMT3B. Ген *DNMT3A* кодирует ДНК метилтрансферазы с функцией метилирования *de novo*. Белок локализуется как в цитоплазме, так и ядре. Большинство мутаций *DNMT3A* — гетерозиготные миссенс-мутации, которые происходят в положении R882 (наиболее часто — R882H) вблизи карбоксильного конца полипептидной цепи [90]. Исследования *in vitro* показали, что мутации *DNMT3A* снижают активность фермента (> 50 %) [91]. Мутации в *DNMT3A* были обнаружены примерно в 20 % случаев ОМЛ с неблагоприятным исходом, в 8 % — МДС [92]. Мутация R882H, делеции (G120fsX40, P419fsX230) в *DNMT3A* были выявлены в 3 (7 %) из 46 случаев ПМФ одновременно с *JAK2, TET2* и *ASXL1* [93]. В литературе имеются описания отдельных клинических наблюдений: миссенс-мутация при *JAK2*V617F-позитивном ИП, *JAK2*V617F-негативном ПМФ, 5 гетерозиготных мутаций у пациентов с МДС [94]. Мутация *DNMT3A* появляется при прогрессировании заболевания и связана с неблагоприятным исходом МПН.

SH2B3

Ген *SH2B3* (LNK, lymphocyte-specific adapter protein) экспрессируется в кроветворных клетках. Белок, кодируемый геном, принимает участие в преобразовании активирующего сигнала с помощью фактора роста и рецепторов цитокинов. Белок содержит N-концевой, плекстрин гомологичный и SH2-домены [95]. Он играет отрицательную роль в регуляции передачи сигналов через цитокин области SH2. Было показано, что LNK является мощным ингибитором активности *JAK2*V617F у мышей [96].

В результате утраты функции белка при мутации *LNK* происходит потеря отрицательной обратной связи и постоянная активация *JAK2* у мышей. Клинически это сопровождается увеличением количества мегакариоцитов, лейкоцитов, спленомегалией и фиброзом костного мозга [97].

Мутации *LNK* выявлены у 2 больных с *JAK2*V617F-негативными МПН. У 1 пациента имела место делеция 5 пар оснований, что привело к преждевременному появлению стоп-кодона и потере плекстрин гомологичного и SH2-доменов. У другого пациента наблюдалась миссенс-мутация (E208Q) в области плекстрин гомологичного домена [98]. Мутации *JAK2* и *LNK* не являются взаимоисключающими. Частота выявления данной мутации у больных *JAK2*-позитивными МПН составляла 13 %. Мутации *LNK* участвуют в трансформации во вторичный ОМЛ. Мутации *LNK* exon2 были также обнаружены в 2 случаях *JAK2/MPL*-негативного семейного эритроцитоза с субнормальным уровнем эритропоэтина [99].

CBL

Ген *CBL* (гомологи c-Cbl, Cbl-b и Cbl-c) представляет собой протоонкоген, который расположен на хромосоме 11q23. Функция белка, кодируемого данным геном, заключается в фосфорилировании тирозинкиназ. Белок играет роль отрицательного регулятора киназного сигнального пути. В экспериментах на мышиных моделях показано, что наличие мутации *CBL* приводит к активации пролиферации стволовых клеток, спленомегалии, повышению чувствительности к факторам роста и развитию инвазивного рака. Мутация в области RING домена c-Cbl является причиной МПН с быстрой прогрессией заболевания и трансформацией во вторичный ОМЛ [100].

Впервые мутация *CBL* выявлена у больных ОМЛ, позднее миссенс-мутации описаны у больных МПН, ХММЛ, ювенильным ХММЛ, атипичным ХМЛ. Частота мутаций *CBL* составляет около 5–17 % при ХММЛ, 19 % при ювенильном ХММЛ и 6 % при ПМФ [101]. Мутации *CBL* сосуществуют с *RUNX1, TP53, FLT3* и *JAK2* [102]. Мутация *CBL* сохраняется в случае бластного криза классических *JAK2*V617F-позитивных МПН, что позволяет предположить ее значение в прогрессировании заболевания [79].

SOCS

Молекулы SOCS, CISH и SHP1 принимают участие в регуляции сигнального пути JAK-STAT. Их избыточная

экспрессия вызывает ингибирование передачи сигналов путем отрицательной обратной связи. В случае возникновения мутации наблюдается инактивация транскрипции этих генов. Впервые мутация *SHP1* была обнаружена в 8,9 % образцов костного мозга пациентов с классическими Ph-негативными МПН [103]. У больных МПН гиперметилирование SOCS1 и SOCS3 встречается в 15 и 32 % случаев соответственно [104]. В настоящее время участие данных молекулярных событий в патогенезе МПН остается неизученным.

IKZF1

Ген *IKZF1* кодирует ДНК-связывающий белок Ikaros, относящийся к семейству цинковых пальцев, контролирует процесс ремоделирования хроматина и играет ключевую роль в регуляции дифференцировки лимфоцитов. Потеря его функции приводит к развитию лимфолейкоза [105]. Исследование, проведенное в когорте больных МПН, позволило выявить, что делеция короткого плеча хромосомы 7 приводит к потере *IKZF1* и развитию бластного криза заболевания [106]. Это позднее генетическое событие после приобретения *JAK2*V617F.

HMGA2

HMGA2 относится к семейству белков HMG, которые изменяют структуру хроматина и тем самым регулируют транскрипцию генов. Этот белок участвует в контроле пролиферации клеток, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Экспрессия *HMGA2* регулируется микроРНК (MIRLET7). MIRLET7 ингибирует синтез специфических белков путем комплементарного связывания с целевой зоной. В исследовании на трансгенных мышах избыточная экспрессия гена *HMGA2* была связана с увеличением экспрессии мРНК, *JAK2* и с цитокиннезависимым фосфорилированием сигнальных путей STAT3 и AKT, что вызывало пролиферацию гемопоэтических стволовых клеток. Транслокации с участием хромосом 12q13–15 приводят к усилению экспрессии *HMGA2* у больных МПН, МДС и МДС/МПН [107].

В группе классических Ph-негативных МПН высокий уровень мРНК и *HMGA2* наблюдается у всех больных ПМФ и более чем в 20 % случаев ИП и ЭТ. Причиной являются аберрации хромосомы 12q. *MIRLET7-HMGA2* может служить терапевтической мишенью при МПН [108].

TP53

Ген *TP53* кодирует белок — опухолевый супрессор, участвующий в регуляции экспрессии генов-мишеней, регулирующих клеточный цикл, апоптоз, репарацию ДНК. Потеря функции гена связана с появлением различных злокачественных опухолей человека. Мутация гена *TP53* выявлена в 45,5 % МПН в фазе бластного криза и только в 4 % в хронический фазе [109]. Таким образом, мутации *TP53* играют важную роль в процессе трансформации заболевания.

В настоящее время синтезирован и проходит клинические исследования таргетный препарат RG7112, который представляется перспективным для лечения больных ИП. RG7112 после связывания с p53 MDM2 ингибирует обратную отрицательную связь [110].

NRAS/KRAS

Белки, кодируемые генами *NRAS/KRAS*, являются членами семейства RAS. Они контролируют передачу сиг-

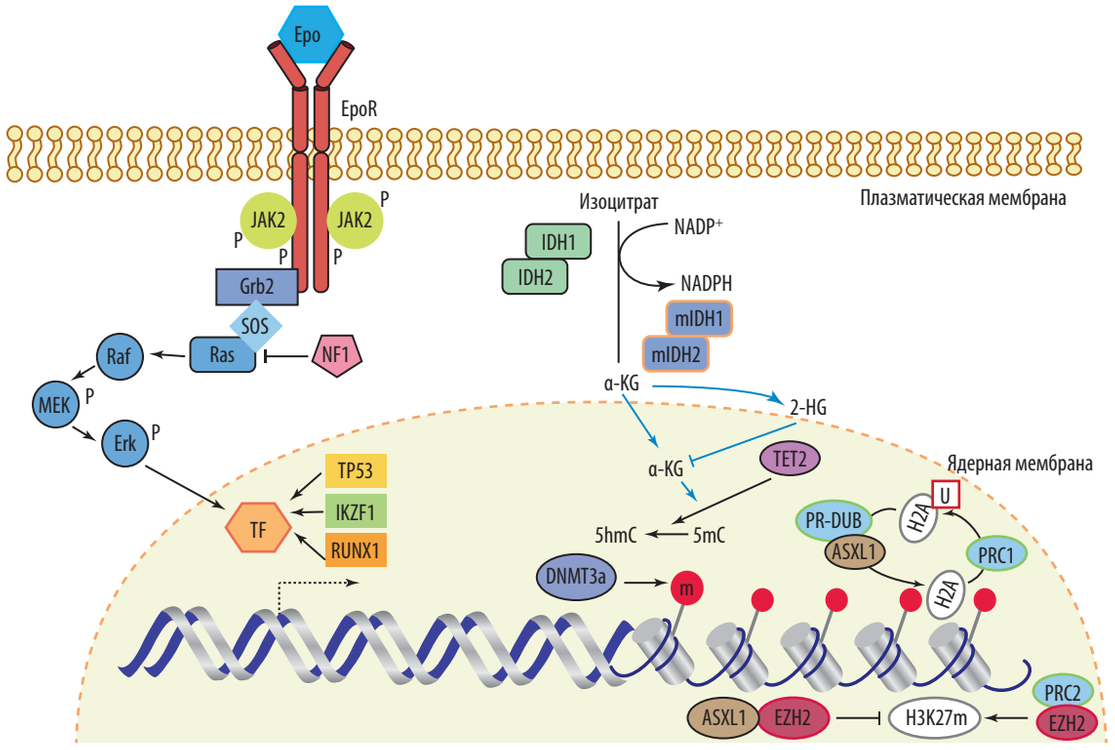

Рис. 5. Гены, контролирующие нестабильность генома и эпигенетическую регуляцию (цит. по [114])

Fig. 5. Genes controlling the genome instability and epigenetic regulation (cited according to [114])

нала внутри клетки и играют важную роль в прогрессии заболевания. Выявляются у 13 % больных МПН в фазе бластного криза [79].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разнообразие фенотипа МПН определяется генетической гетерогенностью. Мутации в первую очередь затрагивают гены, осуществляющие контроль цитокиновых сигнальных путей. Путь JAK-STAT играет решающую роль в пролиферации и дифференцировке гемопоэтических клеток. У больных МПН с высокой частотой выявляется соматическая мутация *JAK2*, наиболее часто — *JAK2*V617F. Открытие мутации V617F гена *JAK2* в 2005 г. значительно улучшило понимание патогенеза ИП, ЭТ и ПМФ. С 2008 г. в основные диагностические критерии ИП, ЭТ, ПМФ было включено наличие мутации *JAK2*V617F. После открытия *JAK2*V617F были идентифицированы и другие мутации в гене *JAK2* [40].

Другой ген, участвующий в регуляции сигнального пути JAK-STAT, — это ген рецептора тромбопоэтина. Связывание тромбопоэтина с этим рецептором регулирует созревание мегакариоцитов и отшнуровку тромбоцитов посредством активации пути JAK-STAT [111]. Мутации *MPL* (наиболее часто — W515L) были описаны у больных ПМФ и ЭТ.

Открытие мутаций *CALR* играет важную роль в молекулярной диагностике МПН. *JAK2*V617F, *CALR* и, реже, *MPL* являются основными клональными маркерами МПН [112]. Следует отметить, что мутации *CALR* были выявлены в 2 случаях *JAK2*-негативной ИП [113]. Кроме того, оценка мутационного статуса *JAK2, MPL* и *CALR* важна не только для диагностики, но и для прогноза как тромботических осложнений, так и общей выживаемости [70].

Соматические мутации генов *TET2*, *EZH2*, *DNMT3A* и *ASXL1* играют существенную роль в патогенезе МПН, определяют фенотип и прогноз заболевания. Соматические мутации могут происходить до появления клона с мутацией *JAK2*, одновременно или как позднее молекулярное событие во время прогрессирования заболевания [78].

Гены *LNK* (*SH2B3*), *SOCSs* и *CBL* регулируют отрицательную обратную связь в сигнальном пути JAK-STAT. Тем не менее эти мутации встречаются редко у пациентов с МПН [106].

Эпигенетические нарушения играют важную роль в развитии МПН. Гены *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/2* и *DNMT3A* участвуют в эпигенетической регуляции и формируют фенотип МПН, а также МДС и заболеваний из группы МДС/МПН [32]. Гены *ASXL1*, *EZH2*, *TP53*, *CBL*, *IKZF*, *NF1*, *RUNX1*, *LNK*, *NRAS/KRAS* и *SRSF2* условно объединены в группу, отвечающую за лейкозную прогрессию заболевания (рис. 5) [14, 114].

TET2 и *IDH1/2* способствуют прогрессированию заболевания и трансформации во вторичный ОМЛ. Мутации *IDH1/2* ингибируют активность *TET2* и поэтому являются взаимоисключающими. Часто выявляются у *JAK2*-негативных больных. Появление *IDH1/2* или *TET2* приводит к гиперметилированию ДНК и нарушению дифференцировки клеток. Мутации *TET2* могут быть полезны как диагностический маркер для МПН, т. к. встречаются с высокой частотой [115].

Таким образом, молекулярно-генетическое исследование мутаций *JAK2*V617F, *JAK2* exon12, *MPL*W515K/L и *CALR* играет исключительную роль в диагностике классических Ph-негативных МПН. Тем не менее в возникновении, развитии данных заболеваний принимают участие гены, контролирующие передачу сигналов внутри клетки, ремоделирование хроматина, метилирование ДНК, онкогены и опухолевые супрессоры. Современные знания свидетельствуют, что мутация *JAK2*V617F не может быть первым событием в сложном патогенезе МПН. Необходимы дополнительные исследования для уточнения роли других молекулярных событий в формировании фенотипа каждой отдельной нозологии в группе Ph-негативных МПН. Новые данные имеют неоспоримое значение для синтеза таргетных препаратов.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа не имела спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: все авторы.
Сбор и обработка данных: все авторы.
Предоставление материалов исследования: все авторы.
Анализ и интерпретация данных: все авторы.
Подготовка рукописи: все авторы.
Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. J Clin Oncol. 2011;29(6):761–70. doi: 10.1200/jco.2010.31.8436.

2. Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out of chaos. Cancer. 2009;115(17):3842–7. doi: 10.1002/cncr.24440.

3. Barosi G. Essential thrombocythemia vs. early/prefibrotic myelofibrosis: why does it matter. Best Pract Res Clin Haematol. 2014;27(2):129–40. doi: 10.1016/j.beha.2014.07.004.

4. Vannucchi AM. Management of myelofibrosis. Am Soc Hematol Educ Program. 2011;2011(1):222–30. doi:10.1182/asheducation-2011.1.222.

5. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. Blood. 2009;113(13):2895–901. doi: 10.1182/blood-2008-07-170449.

6. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, et al. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. J Clin Oncol. 2011;29(4):392–7. doi: 10.1200/jco.2010.32.2446.

7. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). Blood. 2010;115(9):1703–8. doi: 10.1182/blood-2009-09-245837.

8. Tefferi A. How I treat myelofibrosis. Blood. 2011;117(13):3494–504. doi: 10.1182/blood-2010-11-315614.

9. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. CALR and ASXL1 mutations-based molecular prognostication in primary myelofibrosis: an international study of 570 patients. Leukemia. 2014;28(7):1494–500. doi: 10.1038/leu.2014.57.

10. Agarwal MB, Malhotra H, Chakrabarti P, et al. Myeloproliferative neoplasms working group consensus recommendations for diagnosis and management of primary myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia. Indian J Med Paediatr Oncol. 2015;36(1):3–16. doi: 10.4103/0971-5851.151770.

11. Campregher PV, Santos FP, Perini GF, Hamerschlak N. Molecular biology of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. Rev Bras Hematol Hemoter. 2012;34(2):150–5. doi: 10.5581/1516-8484.20120035.

12. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. Immunol Rev. 2009;228(1):273–87. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00754.x.

13. Liu KD, Gaffen SL, Goldsmith MA. JAK/STAT signaling by cytokine receptors. Curr Opin Immunol. 1998;10(3):271–8. doi: 10.1016/s0952-7915(98)80165-9.

14. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. Leukemia. 2010;24(6):1128–38. doi: 10.1038/leu.2010.69.

15. Riedy MC, Dutra AS, Blake TB, et al. Genomic sequence, organization, and chromosomal localization of human JAK3. Genomics. 1996;37(1):57–61. doi: 10.1006/geno.1996.0520.

16. Saharinen P, Silvennoinen O. The pseudokinase domain is required for suppression of basal activity of Jak2 and Jak3 tyrosine kinases and for cytokine-inducible activation of signal transduction. J Biol Chem. 2002;277(49):47954–63. doi: 10.1074/jbc.M205156200.

17. Benekli M, Baer MR, Baumann H, Wetzler M. Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias. Blood. 2003;101(8):2940–54. doi: 10.1182/blood-2002-04-1204.

18. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. Blood. 2011;118(7):1723–35. doi: 10.1182/blood-2011-02-292102.

19. Lacout C, Pisani DF, Tulliez M, et al. JAK2V617F expression in murine hematopoietic cells leads to MPD mimicking human PV with secondary myelofibrosis. Blood. 2006;108(5):1652–660. doi: 10.1182/blood-2006-02-002030.

20. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. Nature. 2005;434(7037):1144–8. doi: 10.1038/nature03546.

21. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N Engl J Med. 2005;352(17):1779–90. doi: 10.1056/NEJMoa051113.

22. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell. 2005;7(4):387–97. doi: 10.1016/j.ccr.2005.03.023.

23. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. The Lancet. 2005;365(9464):1054–61. doi: 10.1016/S0140-6736(05)71142-9.

24. Butcher CM, Hahn U, To LB, et al. Two novel JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythaemia vera patients. Leukemia. 2008;22(4):870–3. doi: 10.1038/sj.leu.2404971.

25. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, et al. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocyticleukemia. Blood. 2005;106(10):3370–3. doi: 10.1182/blood-2005-05-1800.

26. Pich A, Riera L, Sismondi F, et al. JAK2V617F activating mutation is associated with the myeloproliferative type of chronic myelomonocytic leukaemia. J Clin Pathol. 2009;62(9):798–801. doi: 10.1136/jcp.2009.065904.

27. Johan MF, Goodeve AC, Bowen DT, et al. JAK2 V617F Mutation is uncommon in chronic myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol. 2005;130(6):968. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05719.x.

28. Renneville A, Quesnel B, Charpentier A, et al. High occurrence of JAK2 V617 mutation in refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. Leukemia. 2006;20(11):2067–70. doi: 10.1038/sj.leu.2404405.

29. Verstovsek S, Silver RT, Cross NC, Tefferi A. JAK2V617F mutational frequency in polycythemia vera: 100%, > 90%, less? Leukemia. 2006;20(11):2067. doi:10.1038/sj.leu.2404379.

30. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. Blood. 2007;110(3):840–6. doi: 10.1182/blood-2006-12-064287.

31. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, et al. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. Blood. 2007;110(12):4030–6. doi: 10.1182/blood-2007-07-099184.

32. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. Leukemia. 2013;27(9):1861–9. doi: 10.1038/leu.2013.119.

33. Lussana F, Caberlon S, Pagani C, et al. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. Thromb Res. 2009;124(4):409–17. doi: 10.1016/j.thromres.2009.02.004.

34. Wang M, He N, Tian T, et al. Mutation analysis of JAK2V617F, FLT3-ITD, NPM1, and DNMT3A in Chinese patients with myeloproliferative neoplasms. BioMed Res Int. 2014;2014:485645. doi: 10.1155/2014/485645.

35. Passamonti F, Thiele J, Girodon F, et al. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. Blood. 2012;120(6):1197–201. doi: 10.1182/blood-2012-01-403279.

36. Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? Blood. 2009;114(4):759–63. doi: 10.1182/blood-2009-02-206797.

37. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). Blood. 2012;120(26):5128–33. doi: 10.1182/blood-2012-07-444067.

38. Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative neoplasms – a contemporary review. JAMA Oncol. 2015;1(1):97–105. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.89.

39. Nussenzveig RH, Swierczek SI, Jelinek J, et al. Polycythemia vera is not initiated by JAK2V617F mutation. Exp Hematol. 2007;35(1):32–8. doi: 10.1016/j.exphem.2006.11.012.

40. Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. N Engl J Med. 2007;356(5):459–68. doi: 10.1056/NEJMoa065202.

41. Williams DM, Kim AH, Rogers O, et al. Phenotypic variations and new mutations in JAK2 V617F-negative polycythemia vera, erythrocytosis, and idiopathic myelofibrosis. Exp Hematol. 2007;35(11):1641–6. doi: 10.1016/j.exphem.2007.08.010.

42. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. Blood. 2011;117(10):2813–6. doi: 10.1182/blood-2010-11-316810.

43. Campbell PJ, Griesshammer M, Dohner K, et al. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. Blood. 2006;107(5):2098–100. doi: 10.1182/blood-2005-08-3395.

44. Martinez-Aviles L, Besses C, Alvarez-Larran A, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera or idiopathic erythrocytosis. Haematologica. 2007;92(12):1717–8. doi: 10.3324/haematol.12011.

45. Sangkhae V, Etheridge SL, Kaushansky K, Hitchcock IS. The thrombopoietin receptor, MPL, is critical for development of a JAK2V617F-induced myeloproliferative neoplasm. Blood. 2014;124(26):3956–63. doi: 10.1182/blood-2014-07-587238.

46. Chou FS, Mulloy JC. The thrombopoietin/MPL pathway in hematopoiesis and leukemogenesis. J Cell Biochem. 2011;112(6):1491-8. doi: 10.1002/jcb.23089.

47. Abe M, Suzuki K, Inagaki O, et al. A novel MPL point mutation resulting in thrombopoietin-independent activation. Leukemia. 2002;16(8):1500–6. doi: 10.1038/sj.leu.2402554.

48. Ding J, Komatsu H, Wakita A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. Blood. 2004;103(11):4198–200. doi: 10.1182/blood-2003-10-3471.

49. Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, et al. Mpl Baltimore: A thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101(31):11444–7. doi: 10.1073/pnas.0404241101.

50. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. PLoS Med. 2006;3(7):e270. doi: 10.1371/journal.pmed.0030270.

51. Staerk J, Lacout C, Sato T, et al. An amphipathic motif at the transmembrane-cytoplasmic junction prevents autonomous activation of the thrombopoietin receptor. Blood. 2006;107(5):1864–71. doi: 10.1182/blood-2005-06-2600.

52. Boyd EM, Bench AJ, Goday-Fernandez A, et al. Clinical utility of routine MPL exon 10 analysis in the diagnosis of essential thrombocythaemia and primary myelofibrosis. Br J Haematol. 2010;149(2):250–7. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08083.x.

53. Lambert MP, Jiang J, Batra V, et al. A novel mutation in MPL (Y252H) results in increased thrombopoietin sensitivity in essential thrombocythemia. Am J Hematol. 2012;87(5):532–4. doi: 10.1002/ajh.23138.

54. Hussein K, Bock O, Theophile K, et al. MPLW515L mutation in acute megakaryoblastic leukaemia. Leukemia. 2009;23(5):852–5. doi: 10.1038/leu.2008.371.

55. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. Blood. 2008;112(1):141–9. doi: 10.1182/blood-2008-01-131664.

56. Akpinar TS, Hancer VS, Nalcaci M, Diz-Kucukkaya R. MPL W515L/K Mutations in chronic myeloproliferative neoplasms. Turk J Haematol. 2013;30(1):8–12. doi: 10.4274/tjh.65807.

57. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. Blood. 2008;112(3):844–7. doi: 10.1182/blood-2008-01-135897.

58. Teofili L, Giona F, Torti L, et al. Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. Haematologica. 2010;95(1):65–70. doi: 10.3324/haematol.2009.007542.

59. Sun C, Zhang S, Li J. Calreticulin gene mutations in myeloproliferative neoplasms without Janus kinase 2 mutations. Leuk Lymphoma. 2015;56(6):1593–8. doi: 10.3109/10428194.2014.953153.

60. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. N Engl J Med. 2013;369(25):2379–90. doi: 10.1056/NEJMoa1311347.

61. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. N Engl J Med. 2013;369(25):2391–405. doi: 10.1056/NEJMoa1312542.

62. Shirane S, Araki M, Morishita S, et al. JAK2, CALR, and MPL mutation spectrum in Japanese myeloproliferative neoplasms patients. Haematologica. 2015;100(2):46–8. doi: 10.3324/haematol.2014.115113.

63. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. Blood. 2014;123(14):2220–8. doi: 10.1182/blood-2013-11-537167.

64. Lavi N. Calreticulin mutations in myeloproliferative neoplasms. Rambam Maimonides Med J. 2014;5(4):e0035. doi: 10.5041/RMMJ.10169.

65. Rumi E, Harutyunyan AS, Pietra D, et al. CALR exon 9 mutations are somatically acquired events in familial cases of essential thrombocythemia or primary myelofibrosis. Blood. 2014;123(15):2416–9. doi: 10.1182/blood-2014-01-550434.

66. Haslam K, Langabeer SE. Incidence of CALR mutations in patients with splanchnic vein thrombosis. Br J Haematol. 2015;168(3):459–60. doi: 10.1111/bjh.13121.

67. Turon F, Cervantes F, Colomer D, et al. Role of calreticulin mutations in the aetiological diagnosis of splanchnic vein thrombosis. J Hepatol. 2015;62(1):72–4. doi: 10.1016/j.jhep.2014.08.032.

68. Tefferi A, Wassie EA, Lasho TL, et al. Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia. Leukemia. 2014;28(12):2300–3. doi: 10.1038/leu.2014.148.

69. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. Leukemia. 2014;28(7):1472–7. doi: 10.1038/leu.2014.3.

70. Tefferi A, Lasho TL, Finke C, et al. Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in primary myelofibrosis: differences in phenotype and prognostic impact. Leukemia. 2014;28(7):1568–70. doi: 10.1038/leu.2014.83.

71. Shide K, Kameda T, Shimoda H, et al. TET2 is essential for survival and hematopoietic stem cell homeostasis. Leukemia. 2012;26(10):2216–23. doi: 10.1038/leu.2012.94.

72. Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, et al. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. Nature. 2010;466(7310):1129–33. doi: 10.1038/nature09303.

73. Paulsson K, Haferlach C, Fonatsch C, et al. The idic(X)(q13) in myeloid malignancies: breakpoint clustering in segmental duplications and association with TET2 mutations. Hum Mol Genet. 2010;19(8):1507–14. doi: 10.1093/hmg/ddq024.

74. Tefferi A, Pardanani A, Lim KH, et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. Leukemia. 2009;23(5):905–11. doi: 10.1038/leu.2009.47.

75. Martinez-Aviles L, Besses C, Alvarez-Larran A, et al. TET2, ASXL1, IDH1, IDH2, and c-CBL genes in JAK2- and MPL-negative myeloproliferative neoplasms. Ann Hematol. 2012;91(4):533–41. doi: 10.1007/s00277-011-1330-0.

76. Patriarca A, Colaizzo D, Tiscia G, et al. TET2 mutations in Ph-negative myeloproliferative neoplasms: identification of three novel mutations and relationship with clinical and laboratory findings. BioMed Res Int. 2013;2013:929840. doi: 10.1155/2013/929840.

77. Schaub FX, Looser R, Li S, et al. Clonal analysis of TET2 and JAK2 mutations suggests that TET2 can be a late event in the progression of myeloproliferative neoplasms. Blood. 2010;115(10):2003–7. doi: 10.1182/blood-2009-09-245381.

78. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. N Engl J Med. 2009;360(22):2289–301. doi: 10.1056/NEJMoa0810069.

79. Beer PA, Delhommeau F, LeCouedic JP, et al. Two routes to leukemic transformation after a JAK2 mutation-positive myeloproliferative neoplasm. Blood. 2010;115(14):2891–900. doi: 10.1182/blood-2009-08-236596.

80. Ortmann CA, Kent DG, Nangalia J, et al. Effect of mutation order on myeloproliferative neoplasms. N Engl J Med. 2015;372(7):601–12. doi: 10.1056/NEJMoa1412098.

81. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adelaide J, et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol. 2009;145(6):788–800. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07697.x.

82. Carbuccia N, Murati A, Trouplin V, et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. Leukemia. 2009;23(11):2183–6. doi: 10.1038/leu.2009.141.

83. Carbuccia N, Trouplin V, Gelsi-Boyer V, et al. Mutual exclusion of ASXL1 and NPM1 mutations in a series of acute myeloid leukemias. Leukemia. 2010;24(2):469–73. doi: 10.1038/leu.2009.218.

84. Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave LM, et al. ASXL1 mutations promote myeloid transformation through loss of PRC2-mediated gene repression. Cancer Cell. 2012;22(2):180–93. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.032.

85. Brecqueville M, Rey J, Bertucci F, et al. Mutation analysis of ASXL1, CBL, DNMT3A, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, NF1, SF3B1, SUZ12, and TET2 in myeloproliferative neoplasms. Genes Chromos Cancer. 2012;51(8):743–55. doi: 10.1002/gcc.21960.

86. Katoh M. Functional and cancer genomics of ASXL family members. Br J Cancer. 2013;109(2):299–306. doi: 10.1038/bjc.2013.281.

87. Cervantes F. How I treat myelofibrosis. Blood. 2014;124(17):2635–42. doi: 10.1182/blood-2014-07-575373.

88. Ernst T, Chase AJ, Score J, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. Nat Genet. 2010;42(8):722–6. doi: 10.1038/ng.621.

89. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. Mutat Res. 2008;647(1–2):21–9. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2008.07.010.

90. Im AP, Sehgal AR, Carroll MP, et al. DNMT3A and IDH mutations in acute myeloid leukemia and other myeloid malignancies: associations with prognosis and potential treatment strategies. Leukemia. 2014;28(9):1774–83. doi: 10.1038/leu.2014.124.

91. Walter MJ, Ding L, Shen D, et al. Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. Leukemia. 2011;25(7):1153–8. doi: 10.1038/leu.2011.44.

92. Yamashita Y, Yuan J, Suetake I, et al. Array-based genomic resequencing of human leukemia. Oncogene. 2010;29(25):3723–31. doi: 10.1038/onc.2010.117.

93. Abdel-Wahab O, Pardanani A, Rampal R, et al. DNMT3A mutational analysis in primary myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and advanced phases of myeloproliferative neoplasms. Leukemia. 2011;25(7):1219–20. doi: 10.1038/leu.2011.82.

94. Brecqueville M, Cervera N, Gelsi-Boyer V, et al. Rare mutations in DNMT3A in myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic syndromes. Blood Cancer J. 2011;1(5):e18. doi: 10.1038/bcj.2011.15.

95. Rudd CE. Lnk adaptor: novel negative regulator of B cell lymphopoiesis. Sci STKE. 2001;2001(85):pe1. doi: 10.1126/stke.2001.85.pe1.

96. Gery S, Cao Q, Gueller S, et al. Lnk inhibits myeloproliferative disorder-associated JAK2 mutant, JAK2V617F. J Leuk Biol. 2009;85(6):957–65. doi: 10.1189/jlb.0908575.

97. Soriano G, Heaney M. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: new developments in biology with therapeutic implications. Curr Opin Hematol. 2013;20(2):169–75. doi: 10.1097/MOH.0b013e32835d82fe.

98. Oh ST, Simonds EF, Jones C, et al. Novel mutations in the inhibitory adaptor protein LNK drive JAK-STAT signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. Blood. 2010;116(6):988–92. doi: 10.1182/blood-2010-02-270108.

99. Lasho TL, Pardanani A, Tefferi A. LNK mutations in JAK2 mutation-negative erythrocytosis. N Engl J Med. 2010;363(12):1189–90. doi: 10.1056/NEJMc1006966.

100. Rathinam C, Thien CB, Flavell RA, Langdon WY. Myeloid leukemia development in c-Cbl RING finger mutant mice is dependent on FLT3 signaling. Cancer Cell. 2010;18(4):341–52. doi: 10.1016/j.ccr.2010.09.008.

101. Loh ML, Sakai DS, Flotho C, et al. Mutations in CBL occur frequently in juvenile myelomonocytic leukemia. Blood. 2009;114(9):1859–63. doi: 10.1182/blood-2009-01-198416.

102. Sanada M, Suzuki T, Shih LY, et al. Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. Nature. 2009;460(7257):904–8. doi: 10.1038/nature08240.

103. Zhang MY, Fung TK, Chen FY, Chim CS. Methylation profiling of SOCS1, SOCS2, SOCS3, CISH and SHP1 in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasm. J Cell Mol Med. 2013;17(10):1282–90. doi: 10.1111/jcmm.12103.

104. Fourouclas N, Li J, Gilby DC, et al. Methylation of the suppressor of cytokine signaling 3 gene (SOCS3) in myeloproliferative disorders. Haematologica. 2008;93(11):1635–44. doi: 10.3324/haematol.13043.

105. Kastner P, Chan S. Role of Ikaros in T-cell acute lymphoblastic leukemia. World J Biol Chem. 2011;2(6):108–14. doi: 10.4331/wjbc.v2.i6.108.

106. Jager R, Kralovics R. Molecular pathogenesis of Philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative neoplasms. Curr Cancer Drug Targets. 2011;11(1):20–30. doi: 10.2174/156800911793743628.

107. Ikeda K, Ogawa K, Takeishi Y. The role of HMGA2 in the proliferation and expansion of a hematopoietic cell in myeloproliferative neoplasms. Fukushima J Med Sci. 2012;58(2):91–100. doi: 10.5387/fms.58.91.

108. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, et al. Dysregulation of the MIRLET7/HMGA2 axis with methylation of the CDKN2A promoter in myeloproliferative neoplasms. Br J Haematol. 2015;168(3):338–49. doi: 10.1111/bjh.13129.

109. Raza S, Viswanatha D, Frederick L, et al. TP53 mutations and polymorphisms in primary myelofibrosis. Am J Hematol. 2012;87(2):204–6. doi: 10.1002/ajh.22216.

110. Lu M, Hoffman R. p5 as a target in myeloproliferative neoplasms. Oncotarget. 2012;3(10):1052–3. doi: 10.18632/oncotarget.719.

111. Gurney AL, Wong SC, Henzel WJ, de Sauvage FJ. Distinct regions of c-Mpl cytoplasmic domain are coupled to the JAK-STAT signal transduction pathway and Shc phosphorylation. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92(12):5292–6. doi: 10.1073/pnas.92.12.5292

112. Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. Leukemia. 2014;28(7):1407–13. doi: 10.1038/leu.2014.35.

113. Broseus J, Park JH, Carillo S, et al. Presence of calreticulin mutations in JAK2-negative polycythemia vera. Blood. 2014;124(26):3964–6. doi: 10.1182/blood-2014-06-583161.

114. Hasan S, Lacout C, Marty C, et al. JAK2V617F expression in mice amplifies early hematopoietic cells and gives them a competitive advantage that is hampered by IFNα. Blood. 2013;122(8):1464–77. doi: 10.1182/blood-2013-04-498956.

115. Pardanani A, Lasho T, Finke C, et al. LNK mutation studies in blast-phase myeloproliferative neoplasms, and in chronic-phase disease with TET2, IDH, JAK2 or MPL mutations. Leukemia. 2010;24(10):1713–8. doi: 10.1038/leu.2010.163.